

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号
特開2000-325071
(P2000-325071A)

(43)公開日 平成12年11月28日(2000.11.28)

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	データベース(参考)
C 1 2 M 3/06		C 1 2 M 3/06	4 B 0 6 j
C 1 2 N 5/06		C 1 2 N 5/00	E

審査請求 未請求 請求項の数3 O L (全 6 頁)

(21)出願番号	特願平11-141443	(71)出願人	000116806 旭メディカル株式会社 東京都千代田区神田美土代町9番地1
(22)出願日	平成11年5月21日(1999.5.21)	(72)発明者	酒巻 善春 東京都千代田区神田美土代町9番地1 旭 メディカル株式会社内
		(72)発明者	小川 重雄 東京都千代田区神田美土代町9番地1 旭 メディカル株式会社内
		(74)代理人	10008/103 弁理士 佐々木 俊哲
		Fターム(参考)	4B065 AA94X BD09 BD14 CA44

(54)【発明の名称】 細胞分離回収方法

(57)【要約】

【課題】 本発明の目的は、血液伝播感染の危険性を伴う市販製剤の血清たん白質を用いずに、造血幹細胞等、有核細胞が高率に回収できる細胞分離回収方法を提供することにある。

【解決手段】 本発明のポイントは、細胞の凍結保存に用いる蛋白質として、細胞が含まれていた血液から得られる血漿、いわゆる自己血漿を用いる点にある。回収必要細胞、除去対象細胞および血漿を含む細胞含有液を、回収必要細胞を実質的に捕捉し除去対象細胞および血漿を実質的に通過させる細胞捕捉手段に導入し、除去対象細胞含有液を細胞捕捉手段から導出させ、次に該細胞捕捉手段に液体を導入して細胞捕捉手段に捕捉されている回収必要細胞を細胞捕捉手段から回収する細胞分離回収方法において、細胞捕捉手段内に血漿を含む上記細胞含有液を少量残存させたまま回収操作を行うことを特徴とする細胞分離回収方法。

(2) 000-325071 (P2000-325071A)

【特許請求の範囲】

【請求項1】 回収必要細胞、除去対象細胞および血漿を含む細胞含有液を、回収必要細胞を実質的に捕捉し除去対象細胞および血漿を実質的に通過させる細胞捕捉手段に導入し、除去対象細胞含有液を細胞捕捉手段から導出させ、次に該細胞捕捉手段に液体を導入して細胞捕捉手段に捕捉されている回収必要細胞を細胞捕捉手段から回収する細胞分離回収方法において、細胞捕捉手段内に血漿を含む上記細胞含有液を少量残存させたまま回収操作を行うことを特徴とする細胞分離回収方法。

【請求項2】 回収必要細胞、除去対象細胞および血漿を含む細胞含有液を、回収必要細胞を実質的に捕捉し、除去対象細胞および血漿を実質的に通過させる細胞捕捉手段に導入し、除去対象細胞および血漿を含む溶液を該細胞捕捉手段から導出させた後、除去対象細胞および血漿を含む溶液から血漿を分離し、血漿を採取する工程と細胞捕捉手段に液体を導入して細胞捕捉手段に捕捉されている回収必要細胞を細胞捕捉手段から回収する工程とを含み、得られた回収必要細胞含有液に、除去対象細胞および血漿を含む溶液から得られた血漿を添加することを特徴とする細胞分離回収方法。

【請求項3】 回収必要細胞、除去対象細胞および血漿を含む細胞含有液を、回収必要細胞を実質的に捕捉し、除去対象細胞および血漿を実質的に通過させる細胞捕捉手段に導入し、除去対象細胞および血漿を含む溶液を該細胞捕捉手段から導出させた後、除去対象細胞および血漿を含む溶液から血漿を分離し、次に該細胞捕捉手段に該血漿を含む回収液を導入して細胞捕捉手段に捕捉されている回収必要細胞を細胞捕捉手段から回収する事を特徴とする細胞分離回収方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は各種の細胞の混合溶液から必要な細胞のみを分離、回収する方法に関する。得られた細胞は造血幹細胞移植療法等、細胞を用いて行う各種疾病の治療及び免疫学や細胞生物学等の基礎科学分野で用いることが可能となる。

【0002】

【従来の技術】臍帯血幹細胞は、ドナー侵襲皆無の造血幹細胞移植ソースとして注目を集めており、欧米諸国を中心にさかんに臨床応用が試みられている。臍帯血幹細胞は、他の造血幹細胞移植、すなわち、骨髄移植あるいは末梢血幹細胞移植のようにドナーから採取されてすぐ患者に移植されることはまれであるので、採取時から使用時まで保存しておくことが必要である（特に非血縁者間移植の場合）。臍帯血は凍結保存に際し、解凍後の破壊赤血球による副作用防止及び凍結保存時の体積を小さくする目的で、有核細胞を分離（赤血球を除去）すべきであるとされており、現在はほとんどの場合に分離保存が行われている（南江堂、「末梢血幹細胞移植」、17

3ページ）。特公平8-69号公報には、臍帯血をフィコールハイパキュー（比重液による遠心分離法であり、以下これをフィコール法と略す）で分離するためのプロトコルの詳細が開示されている。しかしながら、フィコール法は実験室レベルの、非常に煩雑で長時間を要する操作であるという問題がある。また、WO96/17514公報にはヒドロキシエチルスターチを用いて臍帯血中の赤血球を凝集沈降分離し、有核細胞濃厚液を得るためのバッグシステム、方法及びその方法により得られた細胞液が開示されている。本法は煩雑な操作を少なくするという点では従来のフィコール法と比べ若干の改善となっているが、遠心分離が2回必要であるため、やはり長時間の作業を要することになる。一方、フィコール法や赤血球凝集除去法に代わる造血幹細胞分離方法も散見されるようになった。特開平8-104643号公報では赤血球は通過するフィルターに造血幹細胞を捕捉させた後、最初の通液方向とは逆方向の液流を惹起させて造血幹細胞を回収する方法が開示されている。本法の最大の特長は操作の簡便さであり、短時間で処理することにもかわらず目的とする細胞を高率に回収することができる。回収する液体は生理的溶液であればいかなるものも使用可能であるが、回収した細胞を凍結する際には、細胞保護や栄養補給のためにこの溶液にアルブミン等の血清たん白質を添加することが適当とされている。また、あらかじめ回収液にこのたん白質を添加する方法も考えられている。このたん白質の由来は免疫抗原の問題からウシなどの異種動物由来よりはヒト由来が推奨されている。しかしながら、ヒト血清たん白質は献血などを供給源としたプールした血漿から抽出するものがほとんどで、各種ウイルスやクロイツフェルトヤコブ病を媒介するといわれるプリオンたん白質などの血液伝播感染の危険性を常に伴う。そのため、医療現場ではこれら血清たん白質製剤を極力使用しない方向にある。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、血液伝播感染の危険性を伴う市販製剤の血清たん白質を用いずに、造血幹細胞等、有核細胞が高率に回収できる細胞分離回収方法を提供することにある。

【0004】

【課題を解決するための手段】本発明者は上記課題を解決すべく、細胞回収液と回収した細胞の保存方法に着目して鋭意検討を進めた結果、細胞の凍結保存に用いるたん白質として、細胞が含まれていた血液から得られる血漿、いわゆる自己血漿を用いて細胞の凍結保存を行う方法を見出し、本発明を完成するに至った。すなわち、本発明は回収必要細胞、除去対象細胞及び血漿を含む細胞含有液を、該回収必要細胞を実質的に捕捉し該除去対象細胞及び血漿を実質的に通過させる細胞捕捉手段に導入し、除去対象細胞含有液を該細胞捕捉手段から導出させ、次に該細胞捕捉手段に液体を導入して該細胞捕捉手

(3) 000-325071 (P2000-325071A)

段に捕捉されている該回収必要細胞を該細胞捕捉手段から回収する細胞分離回収方法において、細胞捕捉手段内に血漿を含む細胞含有液を少量残存させたまま回収操作を行うことを特徴とする細胞分離回収方法であり、回収必要細胞、除去対象細胞及び血漿を含む細胞含有液を、該回収必要細胞を実質的に捕捉し該除去対象細胞及び血漿を実質的に通過させる細胞捕捉手段に導入し、除去対象細胞含有液を該細胞捕捉手段から導出させ、除去対象細胞含有液から血漿を分取し、次に該細胞捕捉手段に液体を導入して該細胞捕捉手段に捕捉されている該回収必要細胞を該細胞捕捉手段から回収する細胞分離回収法により得られた回収必要細胞含有液に、凍結保存に必要なたん白質として、除去対象細胞含有液から得られた血漿を添加することを特徴とする細胞分離回収方法であり、また、回収必要細胞、除去対象細胞及び血漿を含む細胞含有液を、該回収必要細胞を実質的に捕捉し該除去対象細胞及び血漿を実質的に通過させる細胞捕捉手段に導入し、除去対象細胞含有液を該細胞捕捉手段から導出させた後、除去対象細胞含有液から血漿を分取し、次に該細胞捕捉手段に得られた血漿を含む回収液を導入して該細胞捕捉手段に捕捉されている該回収必要細胞を該細胞捕捉手段から回収する事を特徴とする細胞分離回収方法である。

【0005】以下本発明を詳細に説明する。本発明で言う回収必要細胞とは分離回収して何らかの用途に用いる細胞を言い、除去対象細胞とは先述の用途には不要であるか、または何らかの病因細胞である等の理由で、回収必要細胞に混入することが問題となるため積極的に除去することが必要である細胞のことを言う。これらを含む細胞含有液としては、末梢血、骨髓、臍帯血（臍帯血管から採取されたものだけでなく、胎盤血管から採取されたものも含む）及びリンパ液やこれらに遠心分離等何らかの処理を施したもの、あるいは各種臓器や組織から抽出した細胞を血漿を主たる構成成分とした液体に再浮遊させたものがあげられる。本発明で言う回収必要細胞を実質的に捕捉し、除去対象細胞及び血漿を実質的に通過させる細胞捕捉手段とは、回収必要細胞は実質的に通過させず捕捉し、除去対象細胞及び血漿は実質的に捕捉せず通過させる手段を言い、例えば回収必要細胞は実質的に捕捉し、除去対象細胞は実質的に通過させる材料を液体流入口と液体流出口を有する容器、あるいは成型容器に充填したもの、液体流入口と液体流出口を有する容器の内面に細胞捕捉面が存在するものがあげられる。回収必要細胞を実質的に捕捉し、除去対象細胞及び血漿は実質的に通過する材料は、回収必要細胞を選択的に捕捉できる限り通常用いられている細胞捕捉材であればいかなる材料も使用できるが、成型性、滅菌性や細胞毒性が低いという点で好ましいものを例示すると、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリスチレン、アクリル樹脂、ナイロン、ポリエステル、ポリカーボネート、ポリアクリル

ルアミド、ポリウレタン等の合成高分子、アガロース、セルロース、酢酸セルロース、キチン、キトサン、アルギン酸塩等の天然高分子、ハイドロキシアパタイト、ガラス、アルミナ、チタニア等の無機材料、ステンレス、チタン、アルミニウム等の金属があげられる。また、これらの捕捉材はこのままでも用いることができるが、細胞の選択的通過あるいは捕捉を行う等の必要に応じ、表面改質を施したものでもよい。例えば、血小板通過性を高めるにはWO87/05812公報で提案されている非イオン性親水基と塩基性含窒素官能基を有するポリマーのコートによる方法等があげられ、細胞の選択的捕捉を行う場合、アミノ酸、ペプチド、糖類、糖タンパク（抗体、接着分子等のバイオリガンドを含む）といった特定の細胞に親和性のあるリガンドを、例えば特開平2-261833号公報で提案されているハロアセトアミド法により固定する方法等があげられる。また、捕捉材の形状としては粒状、繊維塊、織布、不織布、スポンジ状多孔質体、平板等があげられるが、体積あたりの表面積が大きいという点で粒状、繊維塊、織布、不織布、スポンジ状多孔質体が好ましく、更に取り扱い性の点から繊維塊、織布、不織布、スポンジ状構造体といった多孔質構造体が好ましく、中でも不織布、スポンジ状構造体が細胞液の流れ性、製造性の点からより好ましい。不織布の場合、抗CD34モノクローナル抗体等、特定の細胞に特異的に結合するいわゆるバイオリガンド類を表面に固定しない場合、通常、繊維径は1.0μm以上30μm以下であり、好ましくは1.0μm以上20μm以下であり、更により好ましくは1.5μm以上10μm以下である。1.0μm未満では回収必要細胞が強固に捕捉されてしまい回収困難となる可能性があり好ましくない。30μmを超えると、回収必要細胞は繊維に捕捉されず素通りする可能性が高くなる。いずれの場合でも回収率の低下につながるおそれがあるので好ましくない。また、スポンジ状構造体の場合、孔径は通常2.0μm以上30μm以下であり、好ましくは2.5μm以上25μm以下であり、さらにより好ましくは3.0μm以上20μm以下である。2.0μm未満では流れ性が著しく劣り、通液自体が困難になるおそれがあり、また30μmを超えると回収必要細胞の捕捉率の低下を招くので好ましくない。回収必要細胞は捕捉し、除去対象細胞は実質的に通過する材料を充填する容器の材質としては、成型性、滅菌性や細胞毒性が低いという点で好ましいものを例示すると、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリスチレン、アクリル樹脂、ナイロン、ポリエステル、ポリカーボネート、ポリアクリルアミド、ポリウレタン、塩化ビニル等の合成高分子、ハイドロキシアパタイト、ガラス、アルミナ、チタニア等の無機材料、ステンレス、チタン、アルミニウム等の金属があげられる。

【0006】本発明で言う「回収必要細胞を実質的に捕

:(4) 000-325071 (P2000-325071A)

捉し」とは回収必要細胞を60%以上捕捉することを言い、また「除去対象細胞を実質的に通過する」とは細胞含有液中の除去対象細胞が60%以上通過することと言う。本発明における細胞捕捉手段内に血漿を含む細胞含有液を少量残存させるとは、通常1mlから15mlを残存させることであり、好ましくは3mlから10mlである。また、本発明において除去対象細胞含有液から血漿を分離する方法としてはいかなる分離法も使用でき、例えば沈降法、遠心分離法または濾過法があげられる。遠心分離は約1500〜3000gで約10分にわたって行うことができる。また濾過法としては血漿分離膜を用いる方法、たとえば、特公平5-40585号公報にあるようなシステムを用いることによって簡便に血漿が分取できる。この様にして得られた血漿を回収された回収必要細胞含有液あるいは回収液に、1から15ml、好ましくは3から10ml添加することが出来る。本発明による細胞分離回収方法は回収必要細胞が有核細胞である場合に好適に用いられる。有核細胞とは細胞内に核を有する細胞のことを言い、たとえば白血球、顆粒球、好中球、好酸球、好塩基球、骨髄球、赤芽球、リンパ球、Tリンパ球、ヘルパーTリンパ球、サブレッサーTリンパ球、細胞傷害性Tリンパ球、Bリンパ球、NK細胞、NK T細胞、単球、マクロファージ、樹状細胞、造血幹細胞、破骨細胞、骨芽細胞、骨細胞、繊維芽細胞、軟骨芽細胞等があげられる。また、本発明で言う有核細胞含有液とは前記有核細胞を含有する液体のことであり、例えば末梢血、リンパ液、骨髄液、臍帯血、あるいはこれらに何らかの処理を施した液体等があげられる。本発明は細胞捕捉手段に捕捉されている回収必要細胞を細胞捕捉手段から回収する細胞分離回収方法において、細胞捕捉手段内に血漿を含む細胞含有液を少量残存させたまま回収操作を行うことを特徴とする細胞分離回収方法であり、回収必要細胞、除去対象細胞及び血漿を含む細胞含有液を、該回収必要細胞を実質的に捕捉し該除去対象細胞及び血漿を実質的に通過させる細胞捕捉手段に導入し、除去対象細胞含有液を該細胞捕捉手段から導出させ、除去対象細胞含有液から血漿を分取し、次に該細胞捕捉手段に液体を導入して該細胞捕捉手段に捕捉されている該回収必要細胞を該細胞捕捉手段から回収する細胞分離回収方法により得られた回収必要細胞含有液に、凍結保存に必要なたん白質として、除去対象細胞含有液から得られた血漿を添加することを特徴とする細胞分離回収方法であり、また、回収必要細胞、除去対象細胞及び血漿を含む細胞含有液を、該回収必要細胞を実質的に捕捉し該除去対象細胞及び血漿を実質的に通過させる細胞捕捉手段に導入し、除去対象細胞含有液を該細胞捕捉手段から導出させ、除去対象細胞含有液から血漿を分取し、次に該細胞捕捉手段に得られた血漿を含む回収液を導入して該細胞捕捉手段に捕捉されている該回収必要細胞を該細胞捕捉手段から回収する事を特徴とする細胞分離回収方法である。

上記のいずれの分離方法においても、回収された必要細胞には元の細胞含有液から得られた血漿が含有されており、細胞の凍結保存にヒト血清アルブミンなどの血液製剤を添加する必要がなくなる。そのため、血液製剤による未知ウイルスやプリオン等の汚染から免れることができる。また、血漿中にはアルブミン以外のたん白質が含まれており、回収細胞の凍結解凍後のバイアビリティがヒト血清アルブミンに比し、向上していた。

【0007】

【実施例】以下に実施例により本発明をより詳細に説明するが、本発明はこれらにより限定されるものではない。

【実施例1】① 細胞分離器

容器外寸(縦×横×厚み)41×41×18mmで液体流出口と液体流入口を対角線上にもつポリカーボネート製容器の入り口側に平均繊維径2.3μmのポリエステル不織布18枚を、出口側に平均繊維径12μmのポリエステル不織布16枚を充填し細胞分離器とした。なお、充填密度は0.2g/cm²、有効濾過面積12.25cm²、有効濾過長12.4mmであった。また、この細胞分離器に血小板通過性を付与する目的で、親水性ポリマーのコーティングを行った。即ち、ヒドロキシエチルメタクリレート・ジメチルアミノエチルメタクリレート共重合体(ヒドロキシエチルメタクリレートとジメチルアミノエチルメタクリレートのモル比=97:3)の1%エタノール溶液を該フィルターの入口側から通液した後、窒素ガスを通して乾燥させた。

② 細胞分離操作及び凍結保存

ACD溶液60mlを含んだ血液バッグに400mlの全血を採血し、遠心分離を行い、白血球を多く含む中間層を約50ml分取し、細胞含有液とした。この血漿を含む細胞含有液を2等分してバッグに移し、それぞれに細胞分離操作を行った。すなわち、この血液バッグを途中に細胞回収用バッグ5が接続した三方活栓4とメッシュチャンバーを3有するチューブで、①で作製した細胞分離器1の入口側に接続した。細胞分離器1の出口側は途中に回収用シリンジ接続用の三方活栓6を有するチューブでドレーンバッグ7を接続した。原料血液バッグ2中の細胞含有液を約60cmの落差で細胞分離器に通液し、細胞分離器1から流出する赤血球含有液をドレーンバッグ7に排液した。細胞分離器1に細胞含有液を3ml残存させた状態で通液を停止した。次に、三方活栓6に市販のデキストラン40生理食塩水溶液にヒト血清アルブミン4%を含む溶液と含まない溶液をそれぞれ25mlを入れた30mlディスポーザブルシリンジを接続し、三方活栓6をシリンジと細胞分離器のみが連通する方向に回し、また三方活栓4を細胞分離器1と細胞回収用バッグ5のみが連通する方向に回した後、シリンジを押して細胞分離器内に捕捉されている細胞を細胞回収用

(5) 000-325071 (P2000-325071A)

バッグ5に回収した。得られた細胞回収液に最終濃度5%になるようにDMSOを混和し、-196℃で1週間以上の凍結保存を行った。

◎ 結果

上記細胞回収液を37℃で急速に解凍し、解凍後の細胞はトリパンブルーで染色して生細胞数の割合（回収率）を求めた。ヒト血清アルブミン添加では回収率が85%、アルブミン無添加では87%を示し、アルブミンの有無に関わらず、生細胞数の回収率に差はなかった。

【0008】

【実施例2】◎ 細胞分離器

実施例1と同様の細胞分離器を用いた

◎ 細胞分離操作及び凍結保存

娩出後の胎盤及び臍帯から50mlディスポーザブルシリンジ（18ゲージ針付き）を用いて、臍帯血をあらかじめCPD1.5mlが入っている10ml採血管10本に採取した。採取した臍帯血は200mlの血液バッグに移した。この血液バッグを22℃の恒温器にて24時間保存した。24時間後、恒温器から血液バッグを取り出し、実施例1と同様に細胞分離器に通液し、必要細胞を細胞分離器に補足させた。それらのうち2個には細胞含有液を除くために更に5mlの生理食塩液を通液して細胞分離器に残存した細胞含有液を洗浄した。もう一つには実施例1と同様に細胞含有液を3ml残存させた状態で通液を停止した。次に、細胞含有液を洗浄した上記2つには実施例1と同様にデキストラン40生理食塩水溶液にヒト血清アルブミン4%を含む溶液と含まない溶液で細胞分離器内に捕捉されている細胞を細胞回収用バッグ5に回収した。また細胞含有液を残存させたものにはデキストラン40生理食塩液で細胞を回収した。得られた細胞回収液に最終濃度5%になるようにDMSOを混和し、-196℃で1週間以上の凍結保存を行った。細胞回収液は速やかに解凍し、デキストラン40生理食塩液で洗浄し、得られた細胞を造血機能評価用のメチルセルロース培地（Stem Cell Technologies社製Methocult GF H4434V）に、白血球を $2.5 \times 10^4 / \text{ml}$ となるように添加し、これをよく混和して、 $\phi 35 \text{ mm}$ プラスチックディッシュに1ml分注した。造血機能を持つ細胞は上記培地中で培養することによりコロニー（細胞集団）を形成する。その後37℃炭酸ガスインキュベーター中で14日間培養後、コロニー数をカウントし、コロニーの回収率を測定した。

◎ 結果

コロニーの回収率は、細胞含有液を含まず、まったく人白質を含まない例ではコロニー回収率が58%、HSAを含有した例では72%であったのに対し、細胞含有液を含有させた例ではコロニー回収率が82%であり、血漿が細胞の保存に有効であった。

【0009】

【実施例3】◎ 細胞分離器

実施例1と同様の細胞分離器を用いた。

◎ 細胞分離操作及び凍結保存

実施例1と同様にして得られた細胞含有液約50mlをそのまま実施例1と同様の細胞分離器に通液し、必要細胞を細胞分離器に捕捉させた。細胞含有液を除くために更に5mlの生理食塩液を通液して細胞分離器に残存した細胞含有液を洗浄した。細胞分離器を通過した赤血球含有液が回収されているドレーンバッグ7を1,500回転/分×15分で遠心分離し、約20mlの血漿を30mlディスポーザブルシリンジに分取した。細胞分離器に捕捉されている細胞を実施例1のアルブミンを添加しない回収液と同様の回収液で細胞回収用バッグに回収した。得られた細胞回収液に分取した血漿5mlを添加し、さらに最終濃度5%になるようにDMSOを混和し、-196℃で1週間以上の凍結保存をおこなった。

◎ 結果

実施例1と同様に凍結解凍した細胞をトリパンブルーで染色し、生細胞数の回収率を求めたところ、86%を示し、実施例1のアルブミン添加のデキストラン液で回収した際の生細胞数の回収率と差は見られなかった。

【0010】

【実施例4】◎ 細胞分離器

実施例1と同様の細胞分離器を用いた。

◎ 細胞分離操作及び凍結保存

実施例1と同様にして得られた細胞含有液約50mlをそのまま実施例1と同様の細胞分離器に通液し、必要細胞を細胞分離器に捕捉させた。細胞分離器を通過した赤血球含有液が回収されているドレーンバッグ7を1,500回転/分×15分で遠心分離し、25mlの血漿を30mlディスポーザブルシリンジに分取した。このシリンジを三方活栓6に接続し、細胞分離器に捕捉されている細胞を細胞回収用バッグに回収した。得られた細胞回収液に最終濃度5%になるようにDMSOを混和し、-196℃で1週間以上の凍結保存をおこなった。

◎ 結果

実施例1と同様に凍結解凍した細胞をトリパンブルーで染色し、生細胞数の回収率を求めたところ、86%を示し、実施例1のアルブミン添加のデキストラン液で回収した際の生細胞数の回収率と差は見られなかった。

【0011】

【発明の効果】以上示したように、本発明によれば回収必要細胞、除去対象細胞および血漿を含む細胞含有液から回収必要細胞を回収し、凍結保存する方法において、ヒト血清アルブミンなどの血液製剤を使用する必要がなくなり、ウイルス感染などの危険性を回避することができ、医療現場における有用性大である。

【図面の簡単な説明】

【図1】 実施例で用いた細胞分離回路システムの模式図である。

!(6) 000-325071 (P2000-325071A)

【符号の説明】

- 1 細胞分離器
- 2 血液バッグ
- 3 メッシュチャンバー
- 4 三方活栓

- 5 細胞回収用バッグ
- 6 三方活栓
- 7 ドレーンバッグ

【図1】

